

Xây dựng và tối ưu hóa quy trình chiết xuất alkaloid từ cây Náng hoa trắng (*Crinum asiaticum* L.) Amaryllidaceae

Trần Thị Trúc Thanh*, Phùng Đức Truyền, Võ Thị Bạch Tuyết, Nguyễn Thị Mai

Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Để khắc phục hạn chế của phương pháp truyền thống khi chiết xuất alkaloid từ lá Náng hoa trắng (*Crinum asiaticum* L.). Vì vậy đề tài này được thực hiện nhằm xây dựng và tối ưu hóa quy trình chiết xuất bằng phương pháp có hỗ trợ siêu âm (UAE). **Mục tiêu nghiên cứu:** Xây dựng và tối ưu hóa quy trình chiết xuất alkaloid từ cây Náng hoa trắng. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Náng hoa trắng tươi và bột lá dược liệu; quy trình chiết xuất gồm yếu tố nồng độ ethanol, nhiệt độ và thời gian siêu âm được thăm dò mức độ ảnh hưởng, sau đó tối ưu hóa với thiết kế Box-Behnken; quy trình định lượng alkaloid dùng chất đánh dấu lycorin bằng phương pháp HPLC được xây dựng và thẩm định theo hướng dẫn của ASEAN. **Kết quả:** Điều kiện chiết xuất tối ưu là: Nồng độ ethanol 72%, nhiệt độ 45°C, và thời gian siêu âm 45 phút. Hàm lượng lycorin thực tế thu được là $1.65 \pm 0.02\%$, phù hợp với giá trị dự đoán (1.63%). Quy trình định lượng đáp ứng đủ yêu cầu của một quy trình phân tích. **Kết luận:** Nghiên cứu đã xây dựng và tối ưu hóa thành công quy trình chiết xuất alkaloid từ dược liệu Náng hoa trắng, đồng thời thẩm định quy trình định lượng bằng HPLC.

Từ khóa: Náng hoa trắng, *Crinum asiaticum* L., lá, lycorin, tối ưu hóa

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Náng hoa trắng (*Crinum asiaticum* L.), thuộc họ Thủy tiên (Amaryllidaceae), là dược liệu được sử dụng trong y học cổ truyền [1]. Hoạt chất chính tạo nên tác dụng dược lý của họ Amaryllidaceae là các alkaloid, nhóm chất này sở hữu nhiều hoạt tính sinh học đa dạng như chống oxy hóa, chống ung thư, chống viêm và kháng khuẩn [2, 3]. Lycorin là một trong những alkaloid đặc trưng của chi *Crinum* [4]. Tuy nhiên, việc chiết xuất các hợp chất alkaloid từ thực vật là một thách thức, hiệu suất bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như nguồn thực vật, phương pháp và điều kiện chiết xuất. Các phương pháp chiết xuất truyền thống (như ngâm, chiết hồi lưu) thường tốn thời gian, dung môi và cho hiệu quả thấp [5].

Trong những năm gần đây, phương pháp chiết xuất có hỗ trợ siêu âm (Ultrasound-assisted extraction - UAE) đã được chứng minh là một kỹ thuật hiệu quả, nhanh chóng, tiết kiệm chi phí và dung môi [6, 7]. Hiệu quả của quy trình này phụ thuộc chặt chẽ vào các yếu tố như loại dung môi, nồng độ dung môi, nhiệt độ và thời gian chiết [8].

Để tối đa hóa hiệu suất chiết xuất alkaloid từ Náng hoa trắng, việc tối ưu hóa đồng thời các điều kiện chiết xuất là vô cùng cần thiết. Vì vậy, đề tài "Xây dựng và tối ưu hóa quy trình chiết xuất alkaloid từ cây Náng hoa trắng (*Crinum asiaticum* L.)" được

thực hiện nhằm xây dựng một quy trình chiết xuất hiệu quả, tiết kiệm và thẩm định phương pháp định lượng lycorin làm cơ sở cho việc kiểm soát chất lượng dược liệu với mục tiêu cụ thể sau:

- Tiêu chuẩn hóa dược liệu.
- Thăm dò các yếu tố ảnh hưởng và xây dựng quy trình chiết xuất alkaloid.
- Tối ưu hóa quy trình chiết xuất alkaloid.
- Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng alkaloid từ dược liệu.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ VẬT LIỆU NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Dược liệu: Cây Náng hoa trắng (*Crinum asiaticum* L.) được thu hái tại Đồng Nai vào khoảng tháng 01 - 02/2025. Bộ phận sử dụng gồm lá, thân chính và vẩy hành. Dược liệu tươi gồm lá, thân chính và vẩy hành dùng để đánh giá tiêu chuẩn hóa dược liệu. Mẫu được định danh, sau đó lá được thu hái, rửa sạch, sấy ở 60°C đến độ ẩm dưới 12% và xay thành bột thô thu được bột lá dược liệu. Bột lá dược liệu dùng để thực hiện các mục tiêu thăm dò, tối ưu hóa, xây dựng và thẩm định quy trình định lượng.

Hóa chất, thuốc thử: Lycorin (hàm lượng 99%) được

Tác giả liên hệ: Trần Thị Trúc Thanh

Email: thanhttt@hiu.vn

cung cấp bởi Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Dung môi acetonitril, methanol (đạt tiêu chuẩn HPLC, Merck, Đức); acid orthophosphoric, acid formic (loại phân tích, Fisher, Mỹ); ethanol, chloroform, amoniac (Trung Quốc), nước cất 2 lần.

Trang thiết bị: Hệ thống HPLC Shimadzu LC-2030 (Nhật Bản), bể siêu âm Elma S108H (Đức), cân phân tích Shimadzu ATX224 (Nhật Bản), máy cô quay Büchi R210S (Thụy Sĩ) và các thiết bị phòng thí nghiệm khác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tiêu chuẩn hóa dược liệu

Khảo sát đặc điểm vi phẫu: Phương pháp cắt nhuộm vi phẫu quan sát bằng mắt thường và kính hiển vi quang học. Khảo sát thành phần hóa học của bột lá dược liệu gồm: Định tính alkaloid bằng thuốc thử chung và định tính alkaloid bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (SKLM).

Thăm dò các yếu tố ảnh hưởng đến quy trình chiết xuất

Thực hiện thăm dò các yếu tố ảnh hưởng, tiến hành cố định các yếu tố về dược liệu khô và phương pháp chiết: Bột Náng hoa trắng 50 g; tỷ lệ dược liệu:ethanol (1:5); bình chiết được đặt trong bể siêu âm 180 W và 40 kHz. Mỗi mẫu thăm dò được lặp lại 3 lần. Dịch chiết được lắng, gạn, lọc, cô thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu cao chiết. Cao được chuyển sang giấy nhôm đã cân bì trước, sấy ở nhiệt độ 60°C đến khối lượng không đổi (độ ẩm dưới 12%).

Tiến hành khảo sát thăm dò thông qua việc đánh giá các yếu tố gồm: Nồng độ ethanol, nhiệt độ chiết và thời gian siêu âm ảnh hưởng đến hàm lượng lycorin thu được.

Thăm dò nồng độ ethanol chiết: Biến thiên khảo sát 50 đến 90%, khoảng biến thiên $\Delta c = 10\%$. Cố định các yếu tố gồm nhiệt độ chiết xuất 70°C; thời gian siêu âm 30 phút.

Thăm dò nhiệt độ chiết: Biến thiên khảo sát: nhiệt độ từ 40 đến 70°C, khoảng biến thiên $\Delta t^\circ = 10^\circ\text{C}$. Cố định các yếu tố gồm nồng độ ethanol 70%; thời gian siêu âm 30 phút.

Thăm dò thời gian siêu âm: Biến thiên khảo sát: Thời gian từ 15 đến 60 phút, khoảng biến thiên $\Delta t = 15$ phút. Cố định các yếu tố gồm nồng độ ethanol 70%; nhiệt độ 50°C.

Tối ưu hóa quy trình chiết xuất bằng thiết kế Box-Behnken

Sử dụng phần mềm JMP 4.0 và phương pháp bề

mặt đáp ứng (RSM) theo mô hình Box-Behnken (DOE). Ba yếu tố biến thiên (Nồng độ ethanol A, Nhiệt độ B, Thời gian C) được mã hóa ở 3 mức: -1 (dưới), 0 (giữa), +1 (trên) trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Mã hóa các yếu tố ảnh hưởng đến hàm lượng lycorin

Yếu tố	-1	0	1
A: Nồng độ ethanol (%)	60	70	80
B: Nhiệt độ (°C)	40	50	60
C: Thời gian (phút)	15	30	45

Tiến hành 15 thí nghiệm để đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố đến hàm lượng lycorin (y). Mỗi thí nghiệm tiến hành 3 lần, kết quả y là trung bình 3 lần tiến hành. Từ kết quả thực tế, thông qua phân tích hồi quy tuyến tính đánh giá mức độ liên quan giữa các yếu tố và dự đoán điều kiện tối ưu. Sau đó tiến hành thực tế lặp lại 3 lần vùng điều kiện để so sánh với giá trị dự kiến của bước tối ưu hóa.

Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng lycorin bằng HPLC

Chuẩn bị mẫu thử: Cân chính xác khoảng 0.0500 g cao, thêm 20 mL dung môi chiết, siêu âm 20 phút để cao tan hoàn toàn, kiềm hóa dịch đến pH 9 - 10. Lắc phân bố dịch đã kiềm hóa với chloroform, thu dịch chloroform và cô đến cạn. Hòa tan cặn bằng pha động, gộp dịch vào bình định mức 20 mL. Lọc qua giấy lọc thường rồi lọc qua màng lọc 0.45 μm vào vial.

Điều kiện sắc ký:

- Cột: RP C18 (250 mm x 4.6 mm; 5 μm)
- Nhiệt độ buồng cột: 30°C
- Detector: UV 290 nm
- Tốc độ dòng: 0.4 mL/phút; Thể tích tiêm: 5 μL
- Pha động: Chạy theo chương trình gradient gồm Pha động A: Acetonitril; Pha động B: Dung dịch acid formic 0.01% trong nước.

Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn để quy đổi ra hàm lượng % lycorin theo khối lượng dược liệu khô kiệt.

Theo hướng dẫn của ASEAN, thẩm định quy trình định lượng bao gồm các chỉ tiêu [9]:

Tính đặc hiệu: So sánh sắc ký đồ mẫu trắng, mẫu chuẩn và mẫu thử.

Tính tương thích hệ thống: Tiêm lặp lại 6 lần dung dịch chuẩn, đánh giá RSD của thời gian lưu, diện tích pic và hệ số kéo đuôi (T_r).

Tính tuyến tính: Xây dựng đường chuẩn ở 6 nồng

độ (6.25 - 100 µg/mL), xác định R^2 . LOD và LOQ: Tính toán dựa trên độ lệch chuẩn của đáp ứng (σ) và độ dốc (S) của đường chuẩn ($LOD = 3.3 \sigma/S$; $LOQ = 10 \sigma/S$).

Độ chính xác: Đánh giá độ lặp lại (cùng ngày) và độ chính xác trung gian (khác ngày), 6 mẫu thử/ngày, $RSD \leq 2.0\%$.

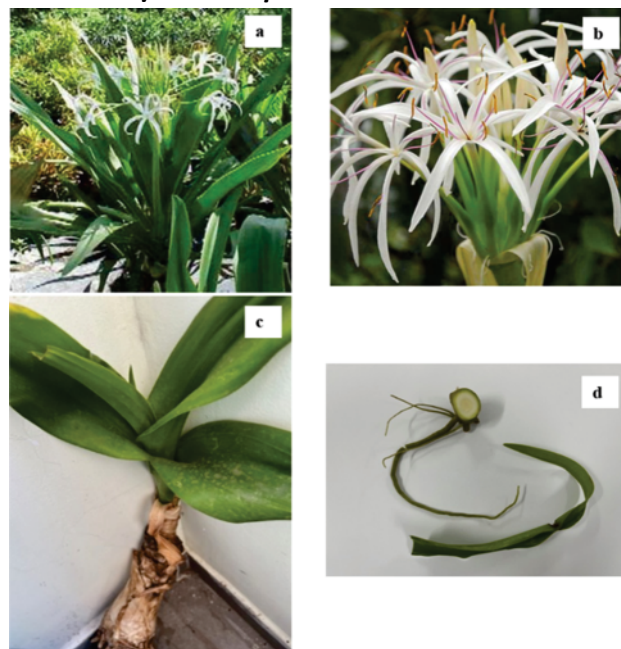
Độ đúng: Phương pháp thêm chuẩn ở 3 mức nồng độ (80%, 100%, 120%), 1 mẫu/mức. Tỷ lệ phục hồi (T%) phải nằm trong khoảng 98.0 - 102.0%

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tiêu chuẩn hóa dược liệu

Đặc điểm hình thái của cây được trình bày trong Hình 1. Cây thân thảo lớn, cao trên 1 m. Thân hành thuôn dài, đường kính 7 - 10 cm, phình to ở dưới và thắt lại ở trên, bên trong có nhiều lớp vảy trắng. Lá mọc từ thân hành, xếp chồng lên nhau, có dạng dải dài (tới 1m), rộng 5 - 10 cm, mép nguyên, gân giữa lõm rõ ở mặt dưới. Cụm hoa là tán đơn mọc từ giữa đám lá, trục hoa dài 40 - 60 cm. Hoa to, màu trắng, thơm, bao hoa dạng ống hẹp chia thành dải. Hoa có 6 nhị, chỉ nhị dài màu đỏ tía, thò ra ngoài. Quả nang, hình cầu, đường kính 3 - 5 cm, thường chứa 1 hạt.

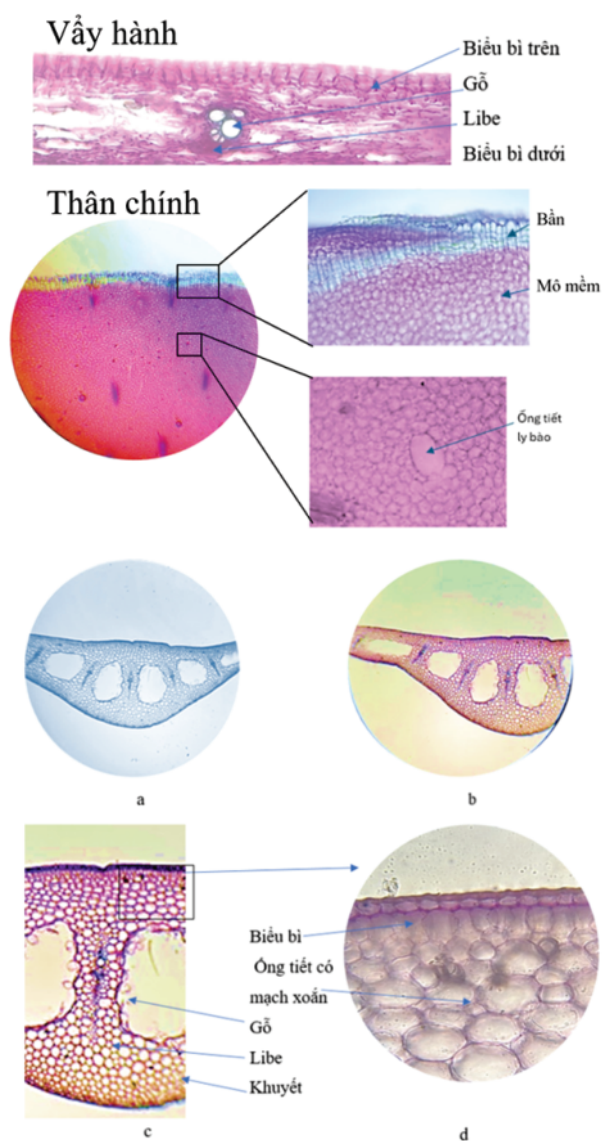
Khảo sát đặc điểm vi phẫu



Hình 1. Hình thái cây năng hoa trắng
(a. Cây có hoa; b. Cụm hoa ở ngọn;
c. Lá và vảy hành; d. Lá và thân non)

Vi phẫu lá, vảy hành, thân chính được trình bày trong Hình 2. Lá: Vi phẫu cắt ngang gân giữa và một phần phiến lá hai bên có dạng phẳng ở mặt trên, lõm rõ ở mặt dưới. Vùng gân giữa và phiến lá hai bên có

nhiều khoảng khuyết to chứa không khí. Vùng gân giữa có cấu tạo gồm biểu bì không lông, mô dày và mô mềm, trong đó mô mềm chứa nhiều ống tiết vách xoắn đặc trưng và các bó tinh thể calci oxalat hình kim. Các bó libe gỗ ở gân giữa xếp thành hàng dài, xen kẽ với những khoảng khuyết to. Vùng phiến lá cũng có cấu trúc biểu bì, các bó libe gỗ xếp cách đều và xen kẽ các khoảng khuyết tương tự gân lá. Vảy hành: Là nhiều lớp màu trắng bao bọc phía ngoài thân chính, cấu tạo của vảy hành về cơ bản giống như lá. Tuy nhiên ở vảy hành mặt cắt ngang có bề dày đều đặn, không có chỗ lõm ra ở dưới gân lá. Bó mạch nhỏ và cách khoảng đều đặn, cấu tạo gồm vài mạch gỗ phía trên, đám libe gồm một ít tế bào màu hồng nhỏ ở dưới.



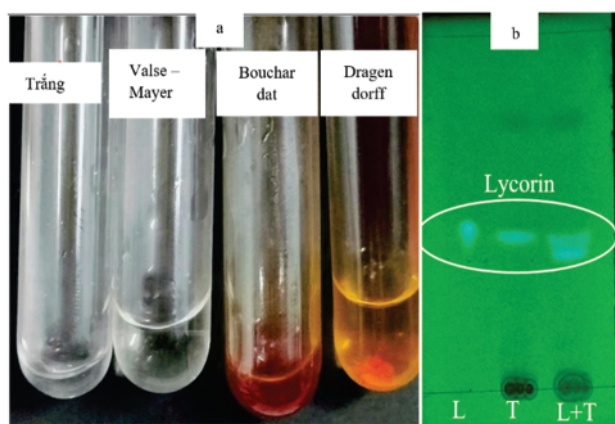
Lá: a. Vùng gân; b. Vùng gân giữa và phiến lá; c. Vùng libe gỗ ở gân giữa; d. Biểu bì và mô mềm ở gân giữa

Hình 2. Vi phẫu lá, vảy hành, thân chính

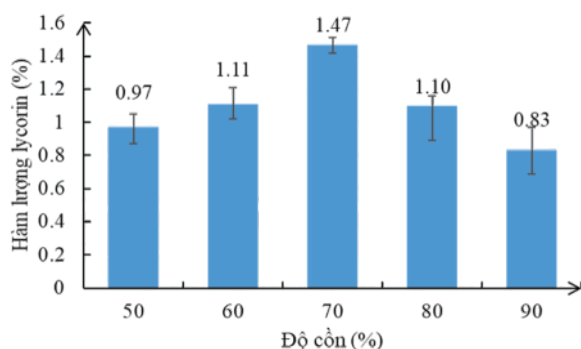
Khảo sát thành phần hóa học của lá

Phản ứng thuốc thử chung (Hình 3a): Dịch chiết lá mỗi mẫu được lặp lại 3 lần cho phản ứng dương tính với cả 3 thuốc thử: Valse-Mayer, Bouchardat, và Dragendorff. Kết quả khẳng định sự hiện diện của alkaloid trong dược liệu.

SKLM (Hình 3b): Lycorin được chọn làm chất đánh dấu để định tính. Kết quả phát hiện vết ở UV 254 nm, vết mẫu thử, vết chuẩn lycorin và vết hỗn hợp mẫu thử - lycorin cho các vết tách rõ ràng. Dược liệu tươi được sử dụng để khảo sát tiêu chuẩn hóa là cây Náng hoa trắng và được xác nhận có chứa lycorin. Các chỉ tiêu kiểm nghiệm đạt yêu cầu theo Dược điển Việt Nam V, bao gồm độ ẩm, định tính bằng phản ứng hóa học và sắc ký lớp mỏng [10].



Hình 3. Khảo sát thành phần hóa học của lá
(a. Phản ứng thuốc thử chung; b. SKLM)



Hình 4. Đồ thị biểu diễn hàm lượng lycorin thu được khi thay đổi yếu tố độ cồn

3.2. Kết quả thăm dò các yếu tố ảnh hưởng và xây dựng quy trình chiết xuất alkaloid

Nồng độ ethanol

Hàm lượng lycorin thay đổi tùy theo nồng độ ethanol được lựa chọn trong bước thu dịch chiết được trình bày trong Hình 4. Hàm lượng lycorin tăng dần khi tăng nồng độ ethanol từ 50% đến 70% (đạt cao nhất là 1.47%). Tuy nhiên, khi tăng lên 80%

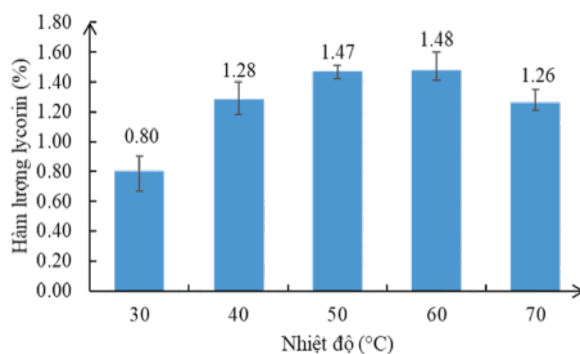
và 90%, hiệu suất giảm dần. Khoảng tối ưu được chọn là 60 - 80%.

Nhiệt độ

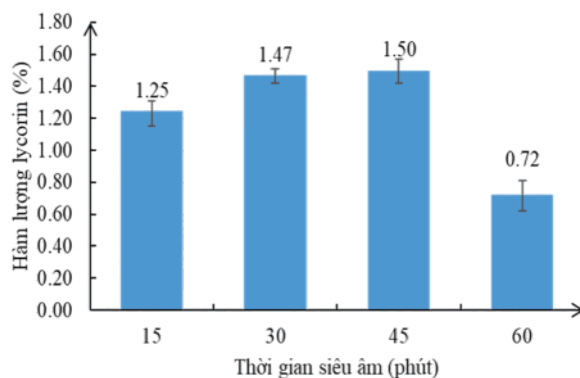
Hàm lượng lycorin thay đổi tùy theo nhiệt độ khảo sát trong quy trình thu dịch chiết được trình bày trong Hình 5. Hiệu suất chiết tăng đáng kể khi tăng nhiệt độ từ 30°C (0.80%) lên 50°C (1.47%). Hiệu suất gần như không đổi khi tăng lên 60°C (1.48%), nhưng bắt đầu giảm khi tăng lên 70°C (1.26%). Khoảng tối ưu được chọn là 40 - 60°C.

Thời gian siêu âm

Hàm lượng lycorin thay đổi tùy theo thời gian siêu âm được trình bày trong Hình 6. Thời gian siêu âm tăng từ 15 phút (1.25%) đến 45 phút (1.50%) làm tăng hiệu suất chiết. Tuy nhiên, khi kéo dài thời gian lên 60 phút, hiệu suất giảm chỉ còn 0.72%. Khoảng tối ưu được chọn là 15 - 45 phút.



Hình 5. Đồ thị biểu diễn hàm lượng lycorin thu được khi thay đổi yếu tố nhiệt độ



Hình 6. Đồ thị biểu diễn hàm lượng lycorin thu được khi thay đổi yếu tố thời gian siêu âm

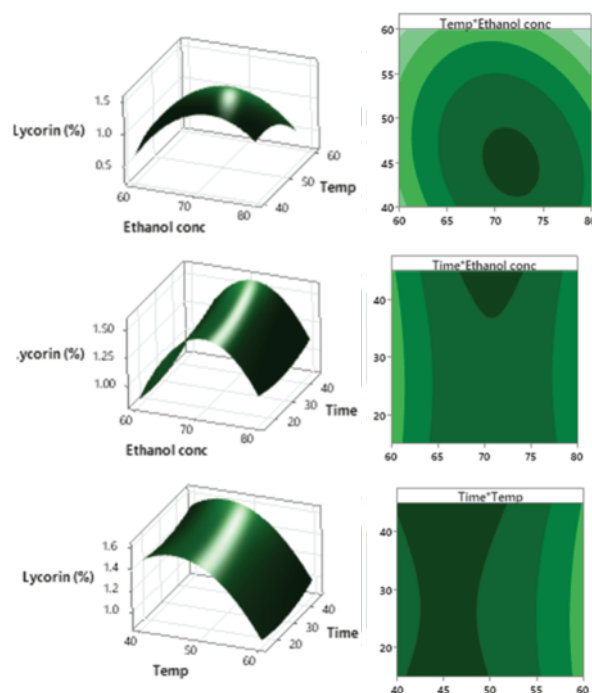
3.3. Tối ưu hóa quy trình chiết xuất

Kết quả thực nghiệm khi thực hiện 15 thí nghiệm được trình bày trong Bảng 2. cho thấy các thí nghiệm cho hàm lượng lycorin cao (lớn hơn 1%) thường có điều kiện nồng độ ethanol ở 2 mức độ 70 - 80%, nhiệt độ thuộc hai mức độ 40 - 50°C và thời gian có thể dao động trong cả 3 mức độ.

Thông qua việc phân tích thống kê bằng phần mềm, thu được phương trình đáp ứng hàm lượng lycorin theo biến phụ thuộc y như sau:

$$y = -37.15 + 0.835 \times A + 0.396 \times B - 0.0122 \times C - 0.005288 A^2 - 0.003088 B^2 + 0.000261 C^2 - 0.001675 \times A \times B - 0.000067 \times A \times C + 0.000067 \times B \times C$$

Trong đó: A là yếu tố nồng độ ethanol (%), B là yếu tố nhiệt độ (°C), C là yếu tố thời gian siêu âm (phút). Dựa trên kết quả phân tích thống kê từ phần mềm, mức độ ảnh hưởng của các yếu tố đến y giảm dần theo thứ tự sau: A^2 , B , B^2 , AB , A , C^2 , C , AC , BC . Yếu tố nhiệt độ (B) ảnh hưởng đến hàm lượng lycorin có ý nghĩa thống kê ($p < 0.05$). Ngoài ra, yếu tố nồng độ ethanol (A) tuy không ảnh hưởng độc lập đến hàm lượng lycorin nhưng nó thể hiện ảnh hưởng bậc 2 tương tự yếu tố nhiệt độ (B). Biểu đồ bề mặt đáp ứng 3D cho thấy mối tương quan phức tạp giữa các yếu tố, trong đó hàm lượng lycorin đạt tối ưu khi nhiệt độ ở mức thấp đến trung bình (khoảng 40 - 50°C) và nồng độ ethanol ở mức trung bình (khoảng 70 - 75%) được trình bày trong Hình 7.



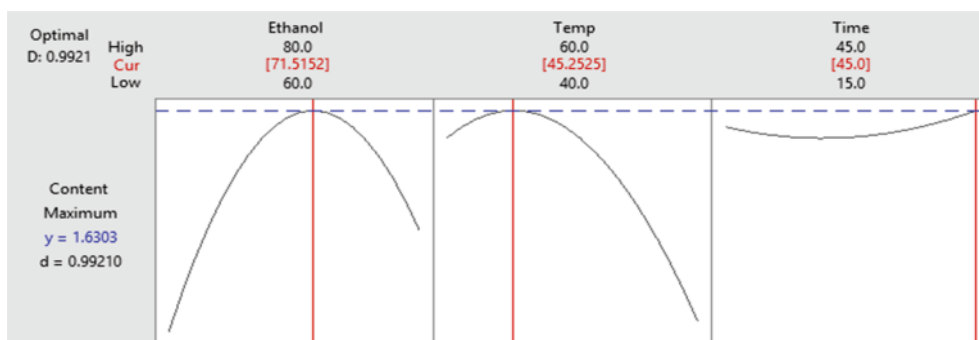
Hình 7. Biểu đồ 3D thể hiện ảnh hưởng của nồng độ ethanol (A - Ethanol conc), nhiệt độ (B - Temp) và thời gian đánh siêu âm (C - Time) đến hàm lượng

Bảng 2. Hàm lượng lycorin thu được từ thực nghiệm tiến hành theo thí nghiệm kiểu thiết kế bề mặt đáp ứng (DOE)

STT	A: Nồng độ ethanol (%)	B: Nhiệt độ (°C)	C: Thời gian (phút)	y1: Hàm lượng lycorin (%)
1	60	40	30	0.52 ± 0.19
2	60	60	30	0.56 ± 0.17
3	80	40	30	1.04 ± 0.08
4	80	60	30	0.41 ± 0.13
5	60	50	15	0.86 ± 0.16
6	60	50	45	0.96 ± 0.07
7	80	50	15	1.06 ± 0.10
8	80	50	45	1.12 ± 0.08
9	70	40	15	1.61 ± 0.08
10	70	40	45	1.60 ± 0.02
11	70	60	15	0.78 ± 0.10
12	70	60	45	0.85 ± 0.12
13	70	50	30	1.44 ± 0.13
14	70	50	30	1.48 ± 0.18
15	70	50	30	1.49 ± 0.05

Phần mềm dự đoán điều kiện chiết xuất tối ưu là nồng độ ethanol 71.52%, nhiệt độ 45.25°C, thời gian 45 phút được trình bày trong Hình 8. Dự kiến thu được hàm lượng lycorin/dược liệu là 1.63%. Để kiểm tra lại kết quả tối ưu hóa so với thực nghiệm, nhóm đề tài tiến hành thực hiện tương tự

với điều kiện chiết xuất tối ưu như sau: Nồng độ ethanol 72%, nhiệt độ 45°C, thời gian 45 phút; lặp lại thí nghiệm 3 lần thu được giá trị thực tế hàm lượng lycorin là $1.65 \pm 0.02\%$ lycorin/dược liệu khô kiệt. Kết quả trung bình thực nghiệm thu được cao hơn 0.02% so với dự đoán.



Hình 8. Kết quả dự đoán và điều kiện chiết xuất tối ưu hàm lượng lycorin

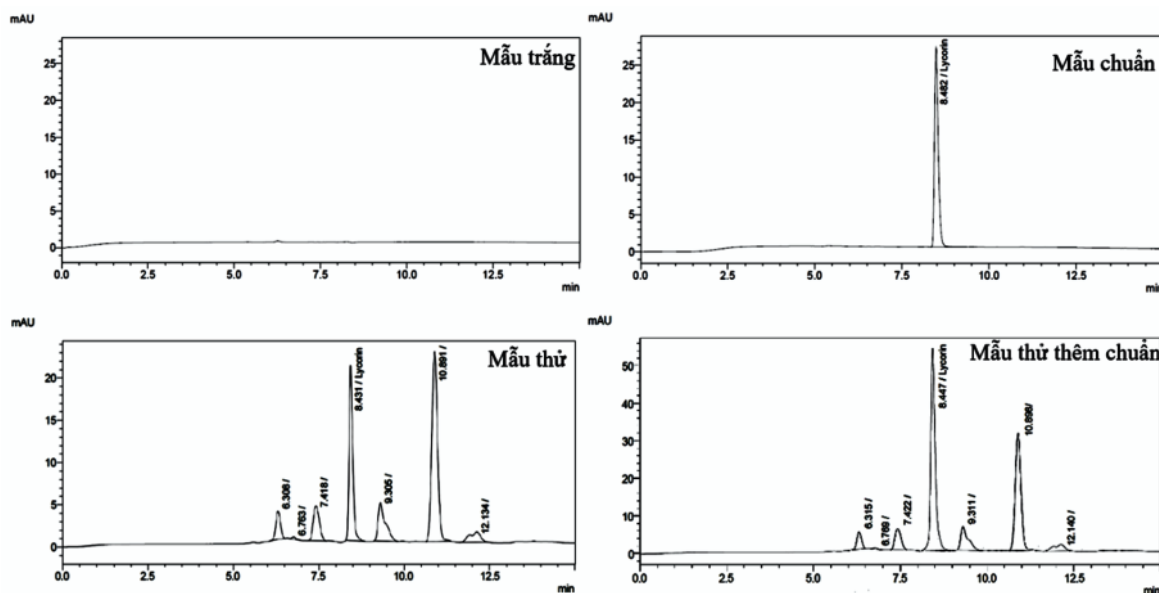
3.4. Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng lycorin bằng HPLC

3.4.1. Tính tương thích hệ thống

Khi tiêm lặp lại 6 lần dung dịch chuẩn, kết quả cho thấy RSD của thời gian lưu (0.16%) và diện tích pic (0.20%) đều < 2.0%. Hệ số kéo đuôi (T_f) là 1.350, nằm trong khoảng 0.8 - 1.5. Quy trình đạt tính tương thích hệ thống.

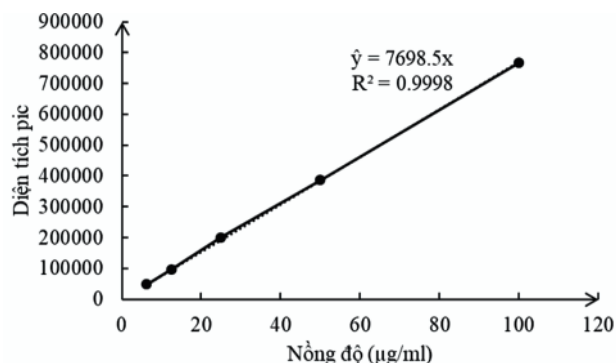
3.4.2. Tính đặc hiệu

Sắc ký đồ của mẫu trắng không xuất hiện pic. Sắc ký đồ mẫu thử xuất hiện pic rõ rệt tại thời gian lưu 8.431 phút, tương ứng với thời gian lưu của pic lycorin chuẩn (8.428 phút) trong Hình 9. Các pic khác trong mẫu thử tách hoàn toàn với pic lycorin. Quy trình đạt tính đặc hiệu.



Hình 9. Sắc ký đồ của mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử, mẫu thử thêm chuẩn

3.4.3. Khoảng tuyến tính của đường chuẩn, LOD và LOQ



Hình 10. Đồ thị biểu thị tương quan nồng độ với diện tích pic của lycorin

Quy trình cho đáp ứng tuyến tính tốt trong khoảng nồng độ 6.25 - 100 µg/mL. Phương trình hồi quy $y = 7698.5x$ ($R^2 = 0.9998$) trong Hình 10. Hệ số tương quan $R^2 > 0.999$, đạt yêu cầu.

Giới hạn phát hiện (LOD) = 1.17 µg/mL và giới hạn định lượng (LOQ) = 3.54 µg/mL.

3.4.4. Độ chính xác và độ chính xác trung gian

Độ lặp lại (Ngày 1): Hàm lượng trung bình 1.66%, RSD = 1.89%.

Độ chính xác trung gian (Ngày 2): Hàm lượng trung bình 1.64%, RSD = 1.95%.

Kết quả RSD ($n = 12$, 2 ngày) là 1.98%. Tất cả giá trị RSD đều < 2.0%. Phép thử T-test cho thấy ($p = 0.23$).

> 0.05), kết quả giữa 2 ngày không khác biệt có ý nghĩa thống kê. Quy trình đạt độ chính xác.

3.4.5. Độ đúng

Phương pháp thêm chuẩn ở 3 mức 80%, 100% và 120% cho tỷ lệ phục hồi trung bình lần lượt là 99.3%, 99.0% và 101.3%. Tất cả các giá trị đều nằm trong giới hạn cho phép (98.0 - 102.0%) và RSD của tỷ lệ phục hồi ở mỗi mức đều < 2.0%. Quy trình đạt độ đúng.

4. BÀN LUẬN

Đặc điểm, hình thái và vi phẫu tương tự như mô tả của tác giả Đỗ Huy Bích và cộng sự [11]. Đồng thời chứng minh được trong dược liệu có chứa lycorin là một alkaloid đặc trưng của chi *Crinum*. Thực hiện thăm dò các yếu tố ảnh hưởng đến quy trình chiết xuất alkaloid, khi 3 yếu tố đánh giá quá cao như nồng độ ethanol 80 - 90%, nhiệt độ 70°C, thời gian siêu âm 60 phút thì hiệu suất giảm dần, có thể do ở nồng độ ethanol và nhiệt độ cao, nhiều tạp chất ít phân cực hơn được hòa tan, cản trở việc chiết lycorin. Hoặc có thể do sóng siêu âm làm tăng lượng tạp chất trong dịch chiết. Phương pháp bề mặt đáp ứng với thiết kế Box-Behnken không chỉ giúp xác định điều kiện tối ưu mà còn làm rõ ảnh hưởng tương tác giữa các yếu tố. Đây là điểm vượt trội so với phương pháp khảo sát đơn yếu tố truyền thống. Đề xuất nghiên cứu mở rộng việc định lượng thêm

các alkaloid khác của lá cho các công bố sau.

5. KẾT LUẬN

Dược liệu Náng hoa trắng (*Crinum asiaticum* L.) thu hái tại Đồng Nai đã được tiêu chuẩn hóa, xác định có đặc điểm hình thái, vi phẫu phù hợp với mô tả và định tính dương tính với alkaloid, trong đó có lycorin. Kết quả khảo sát và xác định được 3 yếu tố chính ảnh hưởng đến hiệu suất chiết xuất alkaloid (lycorin) là độ ethanol, nhiệt độ và thời gian siêu âm. Khoảng điều kiện tối ưu sơ bộ là nồng độ ethanol 60 - 80%, nhiệt độ 40 - 60°C và thời gian siêu âm 15 - 45 phút. Đã tối ưu hóa quy trình chiết xuất bằng phương pháp UAE kết hợp mô hình Box-Behnken. Điều kiện tối ưu được đề xuất là: Dung môi ethanol 72%, nhiệt độ 45°C, thời gian siêu âm 45 phút. Quy trình tối ưu đã được kiểm chứng trong thực tế, cho hàm lượng lycorin thu được là $1.65 \pm 0.02\%$ (tính trên dược liệu đã làm khô hoàn toàn), phù hợp với dự đoán của mô hình (1.63%). Quy trình định lượng lycorin trong dược liệu bằng phương pháp HPLC được xây dựng và thẩm định. Quy trình đạt yêu cầu về tính đặc hiệu, tính tương thích hệ thống, tính tuyến tính, độ chính xác và độ đúng theo hướng dẫn của ASEAN.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng cấp kinh phí thực hiện dưới mã số đề tài GVTC18.34

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] P. C. Tan Suwandecha, "Formulation development and characterization of a transdermal patch containing *Crinum asiaticum* leaves extract," *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, Vol. Volume: 13, pp. 207-213, 2023.
- [2] M. F. Mahomoodally, N. B. Sadeer, S. Suroowan, S. Jugreet, D. Lobine *et al.*, "Ethnomedicinal, phytochemistry, toxicity and pharmacological benefits of poison bulb - *Crinum asiaticum* L.," *South African Journal of Botany*, Vol. 136, pp. 16-29, 2021.
- [3] K. Gowthaman, P. Prakash, V. Ambikapathy, S. Babu, and A. Panneerselvam, "Screening of an medicinal plant *Crinum asiaticum* L. bulb extracts for their proximate composition, phytochemical analysis and antioxidant activity," *J. Biodiv. & Environ. Sci.*, Vol. 27, No. 1, pp. 41-54, 2025.
- [4] S. G. Ghane, U. A. Attar, P. B. Yadav, and M. M. Lekhak, "Antioxidant, anti-diabetic, acetylcholinesterase inhibitory potential and estimation of alkaloids (lycorine and galanthamine) from *Crinum* species: An important source of anticancer and anti-Alzheimer drug," *Industrial Crops and Products*, Vol. 125, pp. 168-177, 2018.
- [5] L. Liu and T. Suo, "Review, challenges, and prospects of the process of alkaloid extraction from plants," *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, Vol. 216, p. 110413, 2025.
- [6] I. M. Yusoff, Z. Mat Taher, Z. Rahmat, and L. S. Chua, "A review of ultrasound-assisted extraction for plant bioactive compounds: Phenolics, flavonoids, thymols, saponins and proteins," *Food Research International*, Vol. 157, p. 111268, 2022.
- [7] S. Letchuman, H. D. T. Madhuranga, B. L. N. K. Madhurangi, A. D. Premarathna, and M. Saravanan, "Alkaloids unveiled: A comprehensive analysis of

novel therapeutic properties, mechanisms, and plant-based innovations," *Intelligent Pharmacy*, Vol. 3, No. 4, pp. 268-276, 2025.

[8] F. Zakaria, J.-K. Tan, S. M. Mohd Faudzi, M. B. Abdul Rahman, and S. E. Ashari, "Ultrasound-assisted extraction conditions optimisation using response surface methodology from *Mitragyna speciosa* (Korth.) Havil leaves," *Ultrasonics Sonochemistry*, Vol. 81, p. 105851, 2021.

[9] Hiệp hội các quốc gia Đông Nam Á, *Hướng dẫn*

của Asean về thẩm định quy trình phân tích, trang. 302-316.

[10] Bộ Y tế, *Náng hoa trắng (Lá)*, trong *Dược điển Việt Nam V, tập 2*, Hà Nội, trang 1258-1259, 2017.

[11] Đ. H. Bích, Đ. Q. Chung, B. X. Chương, N. T. Dong, Đ. T. Đàm và cộng sự, "Náng hoa trắng," trong *"Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam"*, tập 2, NXB Khoa học và kỹ thuật, trang 351-353, 2004.

Development and optimization of the alkaloid extraction process from *Crinum asiaticum* L. (Amaryllidaceae)

Tran Thi Truc Thanh, Phung Duc Truyen, Vo Thi Bach Tuyet, Nguyen Thi Mai

ABSTRACT

Background: To overcome the limitations of traditional methods for extracting alkaloids from the leaves of Asian poison bulb (*Crinum asiaticum* L.), this study was conducted to develop and optimize an extraction process using ultrasound-assisted extraction (UAE). **Objectives:** To develop and optimize the alkaloid extraction conditions from Asian poison bulb. **Materials and methods:** Fresh and powdered herbal materials of Asian poison bulb leaves were used. The extraction procedure, including factors such as ethanol concentration, temperature, and ultrasonication time, was investigated and subsequently optimized using a Box-Behnken design (BBD). An HPLC method for the quantification of alkaloids, using lycorine as a marker compound, was developed and validated according to ASEAN guidelines. **Results:** The optimal extraction conditions were determined to be: An ethanol concentration of 72%, a temperature of 45°C, and a ultrasonication time of 45 minutes. The actual yield of lycorine obtained under these conditions was $1.65 \pm 0.02\%$, which closely matched the predicted value (1.63%). The quantification method met all requirements for an analytical procedure. **Conclusion:** This study successfully developed and optimized the extraction process for alkaloids from Asian poison bulb herbal material and validated the corresponding HPLC quantification method.

Keywords: Asian poison bulb, *Crinum asiaticum* L., leaves, lycorine, optimization

Received: 05/11/2025

Revised: 26/12/2025

Accepted for publication: 07/01/2026